

УДК 576.895.122

© 1992

**ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ЦЕРКАРИИ
PODOCOTYLE ATOMON (TREMATODA: OPECOELIDAE)****Л. П. Незлин, А. В. Рыбаков, Д. В. Контримавичюте**

Гистохимическими методами исследована локализация холинэстеразы и катехоламинов в нервной системе церкарии *P. atomon*. Нервная система, изученная по распределению холинэстеразной активности, построена по ортогональному типу, обычному для церкарий трематод. Обнаружены три пары катехоламинергических нейронов, отростки которых проходят в мозговом ганглии, вентральных стволах и части комиссур. Полученные результаты сравниваются с данными для церкарий других видов. Обсуждаются возможные функции химически специфичных нервных элементов.

Множество исследований посвящено нервной системе различных стадий жизненного цикла трематод. Изучаются как общее строение нервной системы, так и распределение в ней химически специфичных нейронов (Gustafsson, 1987). Кроме чисто практической задачи — помощи в поисках эффективных средств борьбы с трематодозами, эти исследования имеют и теоретическое значение в изучении структуры и функций простых нервных систем. В этом отношении особый интерес представляют свободноживущие личинки трематод — церкарии, поскольку они имеют достаточно простое строение и относительно несложное поведение и легко доступны для изучения.

До настоящего времени большинство работ, посвященных нервной системе церкарий, выполнены на небольшом количестве видов — *Fasciola hepatica*, *Schistosoma* spp. и некоторых других (Bruckner, Voge, 1974; Шишов, Канев, 1986; Шишов и др., 1987, и др.). Ранее нами было показано, что у церкарий разных видов при сохранении единого плана строения нервной системы локализация катехоламинергических нервных элементов существенно различается (Незлин, Рыбаков, 1988). В настоящей работе гистохимическими методами подробно изучена нервная система церкарий *P. atomon*, широко распространенного в морях Советского Союза вида, мариты которого паразитируют в рыбах. Особенностью церкарий данного вида является то, что хвост у них видоизменен в присоскообразный прикрепительный орган. Церкарии не плавают, характерной для них формой локомоции является «шагание» по дну по принципу «пяденицы» на ротовой присоске и хвосте. В остальное время церкарии прикрепляются ко дну при помощи хвоста и раскачиваются вперед и назад или совершают круговые движения телом. Строение различных стадий жизненного цикла у этого вида подробно описано (Hunninen, Cable, 1943, и др.). При этом сведения о строении нервной системы *P. atomon* в литературе отсутствуют.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа проводилась в июне—августе 1987—1988 гг. в заливе Восток Японского моря (биостанция «Восток» Института биологии моря ДВО АН СССР).

Объектом изучения служили церкарии *Podocotyle atomon* (сем. Oprescoelidae).

Зараженных моллюсков *Littorina squalida* собирали на литорали, освобождали от раковины, сдавливали между предметными стеклами и просматривали под биноклем. Церкарий получали, выдерживая в чашках Петри с морской водой дочерних спороцист, выделенных из пищеварительной железы моллюсков.

Локализацию холинэстеразы определяли по методу Жеребцова в модификации Котиковой (Котикова, 1969). Выявление биогенных моноаминов проводили водным глиоксилатным методом с добавлением в раствор 0.5%-го диметилсульфоксида для улучшения проницаемости покровов. Методика подробно описана ранее (Незлин, Рыбаков, 1988).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Церкария *P. atomon* имеет овальное тело, длиной 80—140 мкм, покрытое мелкими шипиками (рис. 1). Выявление холинэстеразной активности показало наличие в передней части тела мощного гантелеобразного мозгового ганглия, смещенного на дорсальную сторону (рис. 2, А). Вперед от него отходят три пары стволов: дорсальные, латеральные и вентральные. Стволы доходят до переднего конца тела и замыкаются кольцевой комиссурой, лежащей в толще ротовой присоски. Вторая замкнутая кольцевая комиссура лежит непосредственно впереди ганглия. Назад от мозгового ганглия также отходят три пары стволов, которые соединяются пятью замкнутыми кольцевыми комиссурами. На заднем конце тела стволы сходятся вместе. Вентральные стволы мощнее остальных. На уровне 3-й постцеребральной комиссуры дорсальные стволы слегка изгибаются на вентральную сторону. Брюшная присоска расположена между 3-й и 4-й комиссурами. В этом районе от вентральных стволов в присоску отходят две пары ответвлений, дистальные концы которых замыкаются кольцевой комиссурой, лежащей в толще брюшной присоски (рис. 2, Б). От места соединения стволов в заднем конце тела в хвост отходят две пары стволов, которые тоже соединяются в заднем конце хвоста.

После проведения люминесцентной гистохимической реакции у церкарий *P. atomon* обнаруживаются клетки с ярко-зеленым свечением, характерным для катехоламинов (рис. 3). Одна пара нейронов с зеленым свечением расположена в районе мозгового ганглия на дорсальной стороне тела (рис. 3, А). Нейроны 2-й пары лежат около ганглия справа и слева. 3-я пара нейронов располагается на латеральных стволах на уровне брюшной присоски. Нейроны округлой или

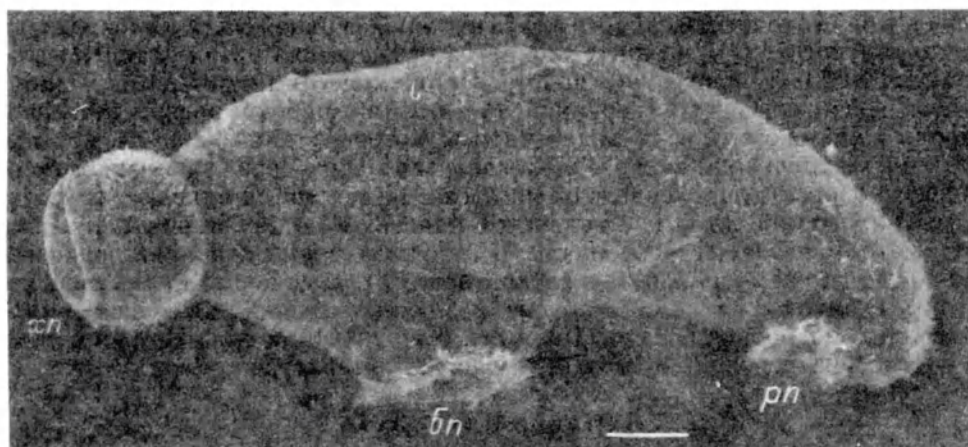


Рис. 1. Сканирующая электронная микрофотография церкарии *P. atomon*. Вид сбоку. Линейка 10 мкм.

Fig. 1. Scanning electron micrograph of *P. atomon* cercaria. Lateral view. Scale 10 mkm.

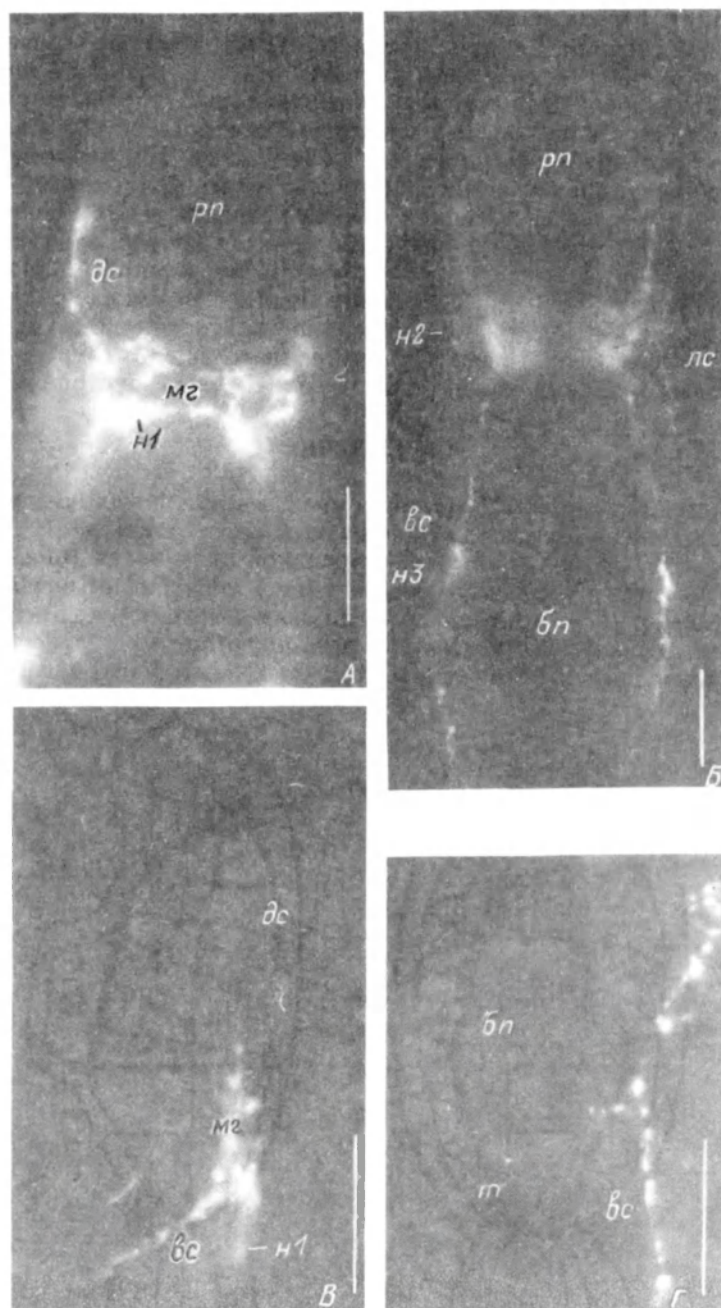


Рис. 3. Индуцированная глиоксиловой кислотой люминесценция катехоламинов в нервной системе церкарии. Линейка 10 мкм.

А — передняя часть тела с мозговым ганглием, вид с брюшной стороны; Б — то же, другая плоскость резкости, свечение в вентральных и латеральных стволах; В — мозговой ганглий, вид сбоку; Г — иннервация брюшной присоски, вид сбоку; дс — дорсальный нервный ствол; лс — латеральный нервный ствол; н 1—3 — катехоламинсодержащие нейроны; т — терминаль.
Остальные обозначения, как на рис. 2.

Fig. 3. Luminescence of catecholamines in the nervous system of cercaria induced by glyoxylic acid. Scale 10 mkm.

слегка вытянутой формы, диаметр 2—4 мкм. Отростки 1-й пары нейронов проходят в мозговой ганглий, 2-я пара посылает отростки вперед и назад в составе латеральных стволов и в мозговой ганглий (рис. 3, Б), 3-я — тоже вперед и назад по ходу латеральных стволов и в ventральные стволы, а также на дорсальную сторону тела в составе 3-й комиссуры. В собственно мозговом ганглии тел катехоламинсодержащих клеток не обнаружено. По периферии ганглия и в составе его центральной комиссуры выявлены многочисленные светящиеся отростки. Внутри каждой из половин мозгового ганглия таких отростков не найдено. Светящиеся отростки обнаружены также в составе дорсальных и ventральных стволов, идущих к ротовой присоске (рис. 3, В), и по всей длине ventральных стволов до заднего конца тела. От ventральных стволов на уровне приблизительно 4-й комиссуры в заднюю часть брюшной присоски идет по веточке, оканчивающейся у поверхности присоски терминалями (рис. 3, Г). Кроме того, два отростка отходят в задний конец тела от задней части ventральных стволов.

ОБСУЖДЕНИЕ

«Шагающая» церкария *P. atomon* имеет весьма своеобразное поведение и хвост, видоизмененный в присоскообразный орган. Между тем результаты, полученные методом выявления холинэстеразной активности (рис. 4), который традиционно используется для изучения общей топографии нервной системы (Котикова, 1969), в целом соответствуют данным, имеющимся для других видов. В отличие от церкарии *Diplostomum pseudospathaceum*, у которой вперед от мозгового ганглия отходят 4 пары стволов (Niewiadomska, Moczon, 1982),

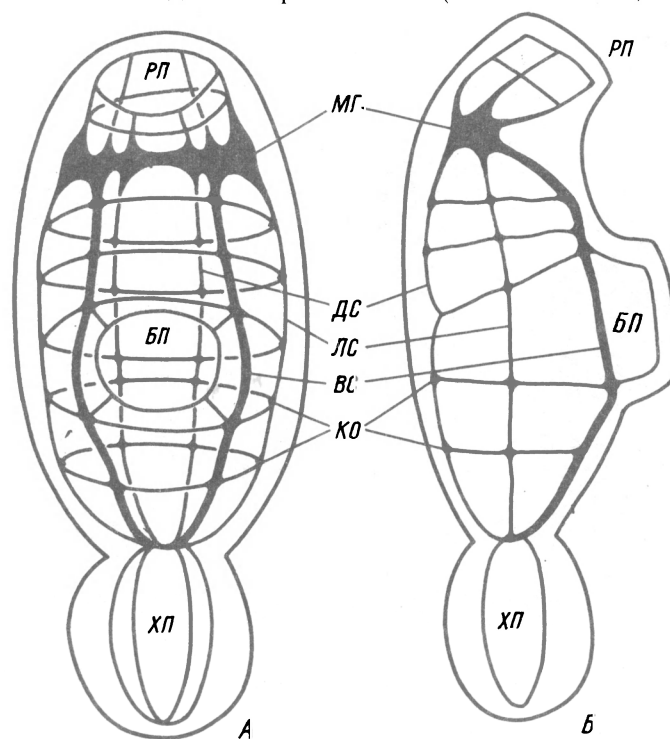


Рис. 4. Схема строения нервной системы церкарии (по локализации холинэстеразной активности).

А — вид с брюшной стороны; Б — вид сбоку.
Обозначения, как на рис. 2 и 3.

Fig. 4. Structure of the nervous system of cercaria (by localization of cholinesterase activity).

у церкарии *P. atomon* их обнаружено лишь 3 пары. От других изученных в этом отношении церкарий из Японского моря нервная система церкарии *P. atomon* отличается лишь тем, что позади мозгового ганглия у них обнаружено 5, а не 4 полные кольцевые комиссуры (Незлин, Рыбаков, 1988). Нервное кольцо в брюшной присоске иннервируется 2 парами ответвлений, отходящими от вентральных стволов в районе 2—4-й комиссур.

Сходные данные о строении нервной системы по локализации холинэстеразной активности приведены в литературе для свободноплавающих церкарий различных видов (Котикова, 1969; Grabda-Kazubska, Moczon, 1981, и др.). При этом, несмотря на большие различия в строении хвоста, в него всегда проходят 2 пары нервных стволов. Аналогичная топография нервной системы церкарий выявлена и другими методами: серебрением (Rohde, 1968) и окраской метиленовым синим (Bullock, 1965). Сильно отличается только топография нервной системы церкарий рода *Schistosoma*, у которых выявлены всего 2 пары продольных стволов (Bruckner, Voge, 1974, и др.).

Изучение локализации катехоламинсодержащих нервных элементов показало, что они отсутствуют в некоторых участках нервной системы (рис. 5). Обнаруженные 3 пары нейронов посылают отростки в составе вентральных, дорсальных и латеральных стволов в передней части тела, а позади мозгового ганглия отростки встречаются лишь в составе вентральных стволов и небольшого участка латеральных. Короткие отростки 3-й пары нейронов обнаружены в составе части 3-й кольцевой комиссуры. Ранее Шишовым с соавторами (Шишов, Люкшина, 1984; Шишов, Канев, 1986; Шишов и др., 1987) у церкарий

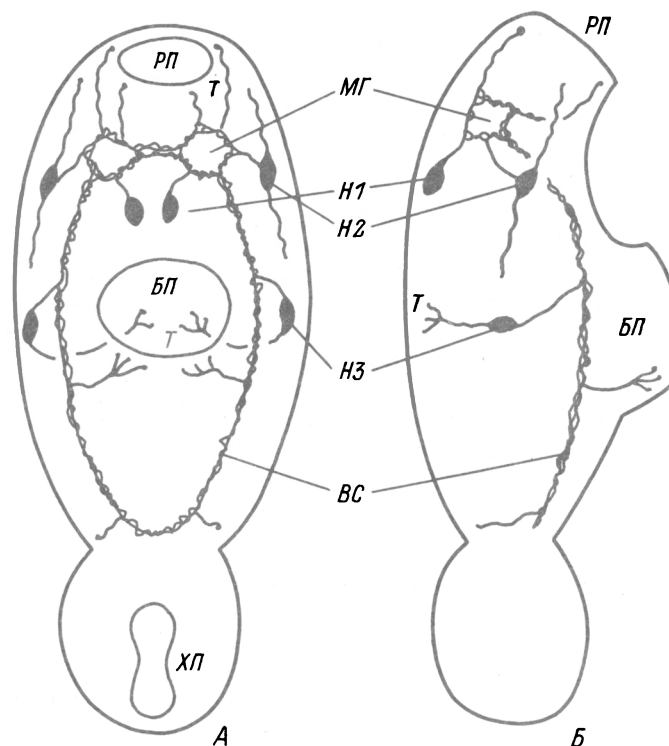


Рис. 5. Схема локализации катехоламинсодержащих элементов в нервной системе церкарии.

А — вид с брюшной стороны; Б — вид сбоку.
Обозначения как на рис. 2 и 3.

Fig. 5. Localization of catecholamine containing elements in the nervous system of cercaria.

Notocotylus attenuatus, *F. hepatica*, *Echinostoma andyi*, *E. lindaense* и *Philophthalmus* spp. также были обнаружены 3 пары катехоламинсодержащих нейронов, но расположение их отростков существенно отличается от *P. atomon*.

У церкарии *N. attenuatus* люминесценция катехоламинов выявлена в составе мозгового ганглия, 3 пар продольных стволов и многочисленных поперечных комиссур (Шишов, Люкшина, 1984). У церкарий других перечисленных видов отростки катехоламинсодержащих нейронов также локализованы в составе трех пар продольных стволов, однако они встречаются лишь в части поперечных комиссур. Во всех случаях люминесценция катехоламинов выявлена в хвосте, ротовой и брюшной присосках. В дальнейшем было показано, что у ряда специализированных видов происходит исчезновение катехоламинсодержащих элементов из периферических отделов нервной системы (дорсальных и латеральных стволов, комиссур и хвоста) (Незлин, Рыбаков, 1988). По распределению катехоламинергических элементов *P. atomon* занимает промежуточное положение между примитивными и наиболее специализированными видами.

Биохимические исследования показали, что доминирующим биогенным амином у трематод является дофамин (Теренина, 1982). Кроме дофамина, у них обнаружены также серотонин и норадреналин (Chou e. a., 1972; Теренина, 1981). Различными авторами показана важная роль биогенных аминов в жизнедеятельности трематод. Показана трансмиссивная функция моноаминов (Venet, Bueding, 1971). Доказано также влияние серотонина на углеводный обмен (Rachman e. a., 1985). Шишовым с соавторами (Шишов, Канев, 1986; Шишов и др., 1987) на основании того, что аминергические волокна иннервируют локомоторные образования различных стадий жизненного цикла трематод (латеральные выросты и плечики редий, хвост церкарий, присоски у личиночных и взрослых форм), а также на основании локализации этих волокон среди клеток соматической мускулатуры было высказано предположение о том, что нейроны аминергической природы участвуют в формировании моторной активности соматической мускулатуры. С другой стороны, поскольку эти нейроны обычно иннервируют поверхность тела, особенно на головном конце, те же авторы не исключали для катехоламинергических нейронов и сенсорную функцию.

Отсутствие у церкарий ряда видов катехоламинергической иннервации большей части мышц тела позволяет предположить, что нейроны этого химизма связаны, скорее всего, с рецепторной функцией (Незлин, Рыбаков, 1988). Наличие у церкарий холинергических нервных элементов по всему телу и в хвосте, в том числе в тех участках, где не обнаружены катехоламины, дает основание предположить, что именно они участвуют в управлении локомоцией. Это подтверждается и фармакологически: по нашим предварительным данным, блокатор холинорецепторов — митолон стимулирует спонтанную мышечную активность у церкарий, а ингибитор ацетилхолинэстеразы — В-81 тормозит ее или ликвидирует. Воздействие различных фармакологически активных веществ, специфически действующих на аминергические клетки, видимых изменений двигательной активности не вызывало.

Ранее было показано влияние ацетилхолина на двигательную активность *Sch. mansoni* (Barker e. a., 1966). Изучение холинэстеразной активности в хвосте церкарии *Proterometra macrostoma*, а также воздействия на его подвижность веществ амин- и холинергического рядов показало, что нейромышечная активность при плавании модулируется ацетилхолином (Uglen, Prior, 1983). Таким образом, можно предположить, что ацетилхолин у церкарий *P. atomon* участвует в регуляции мышечной активности и несет тормозную функцию.

Список литературы

- Котикова Е. А. Холинэстераза трематод и некоторые особенности строения их нервной системы // Паразитология. 1969. Т. 3. вып. 6. С. 532—537.

- Незлин Л. П., Рыбаков А. В. Гистохимическое изучение нервной системы церкарий трематод // Журн. общ. биол. 1988. Т. 49. С. 695—703.
- Теренина Н. В. Идентификация катехоламинов в тканевых экстрактах трематоды *Fasciola hepatica* // Журн. эвол. биох. физиол. 1981. Т. 17. С. 342—347.
- Теренина Н. В. Биогенные амины (дофамин, серотонин) в тканях некоторых трематод сем. Plagiorchiidae // Паразитология. 1982. Т. 16, вып. 5. С. 384—389.
- Шишов Б. А., Канев И. Аминергические нервные элементы в нервной системе эхиностоматид и филофталмид // Паразитология. 1986. Т. 20, вып. 1. С. 46—52.
- Шишов Б. А., Люкшина Л. М. Катехоламины в нервной системе *Notocotylus attenuatus* (Trematoda: Notocotylidae) // Паразитология. 1984. Т. 18, вып. 3. С. 215—219.
- Шишов Б. А., Люкшина Л. М., Щербакова М. А. Постоянство и изменчивость аминергических клеток на разных этапах жизненного цикла паразитического плоского червя *Fasciola hepatica* (Trematoda) // Журн. общ. биол. 1987. Т. 48. С. 124—135.
- Barker L. R., Bueding E., Timms A. R. The possible role of acetylcholine in *Schistosoma mansoni* // Brit. J. Pharmacol. 1966. Vol. 26. P. 656—665.
- Bennett J., Bueding E. Localization of biogenic amines in *Schistosoma mansoni* // Comp. Biochem. Physiol. 1971. Vol. 39. P. 859—868.
- Bruckner D. A., Voge M. The nervous system of larval *Schistosoma mansoni* as revealed by acetylcholinesterase staining // J. Parasitol. 1974. Vol. 60. P. 437—446.
- Bullock T. H. Plathelminthes // Bullock T. H., Horridge G. F. Structure and function in the nervous system of invertebrates. 1965. Vol. 1. 535 p.
- Choy T. C. T., Bennett J., Bueding E. Occurrence and concentrations of biogenic amines in trematodes // Int. J. Parasitol. 1972. Vol. 58. P. 1098—1102.
- Grabda-Kazubsa B., Moczon T. Nervous system and chaetotaxy of *Haplometra cylindracea* cercaria (Zeder, 1800) (Digenea: Plagiorchiida) // Z. Parasitenk. 1981. Vol. 65. P. 53—60.
- Gustafsson M. K. S. Helminth nervous system // Mehlhorn H. Parasitology in focus. N. Y.: Springer-Verlag. 1987. P. 295—311.
- Hunninen A. V., Cable R. M. The life history of *Podocotyle atomon* (Rud.) (Trematoda: Opcoelidae) // Trans. Amer. Micr. Soc. 1943. Vol. 62. P. 57—68.
- Niewiadomska K., Moczon T. The nervous system of *Diplostomum pseudospathaceum* (Digenea: Diplostomatidae) // Z. Parasitenk. 1982. Vol. 68. P. 295—304.
- Rachman M. S., Mettrick D. F., Podesta R. B. *Schistosoma mansoni*: effects of *in vitro* serotonin (5-HT) on aerobic and anaerobic carbohydrate metabolism // Exp. Parasitol. 1985. Vol. 60. P. 10—17.
- Rohde K. The nervous system of the cercaria of *Catantopis indica* Srivastawa, 1935 (Digenea: Notocotylidae) and of the adult *Diaschistorchis multitesticularis* Rohde, 1962 (Digenea: Pronocephalidae) // Z. Morphol. Tiere. 1968. Vol. 2. P. 77—102.
- Uglen G. L., Prior D. J. Control of swimming in cercariae of *Proterometra macrostoma* (Digenea) // J. Parasitol. 1983. Vol. 69. P. 866—870.

Институт биологии развития
им. Н. К. Кольцова АН СССР, Москва;
Институт биологии моря ДВО АН СССР,
Владивосток

Поступила 27.11.1990

HISTOCHEMICAL STUDY OF THE NERVOUS SYSTEM OF THE CERCARIA PODOCOTYLE ATOMON (TREMATODA: OPECOELIDAE)

L. P. Nezlin, A. V. Rybakov, D. Kontrimavichute

Key words: nervous system, cercaria, cholinesterase, biogenic monoamines, *Podocotyle atomon*

SUMMARY

The nervous system of *P. atomon* cercariae has been studied by the methods of histochemical visualization of cholinesterase activity and biogenic monoamines. The nervous system is of orthogon-like type with the brain ganglion and three pairs of longitudinal strands connected by circular commissures. Three pairs of catecholamine containing neurones were found. Their processes were detected in the ganglion, ventral strands and short parts of lateral strands and one of the commissures. The results are compared to those known for other cercariae. Possible functions of the detected nervous elements are discussed.

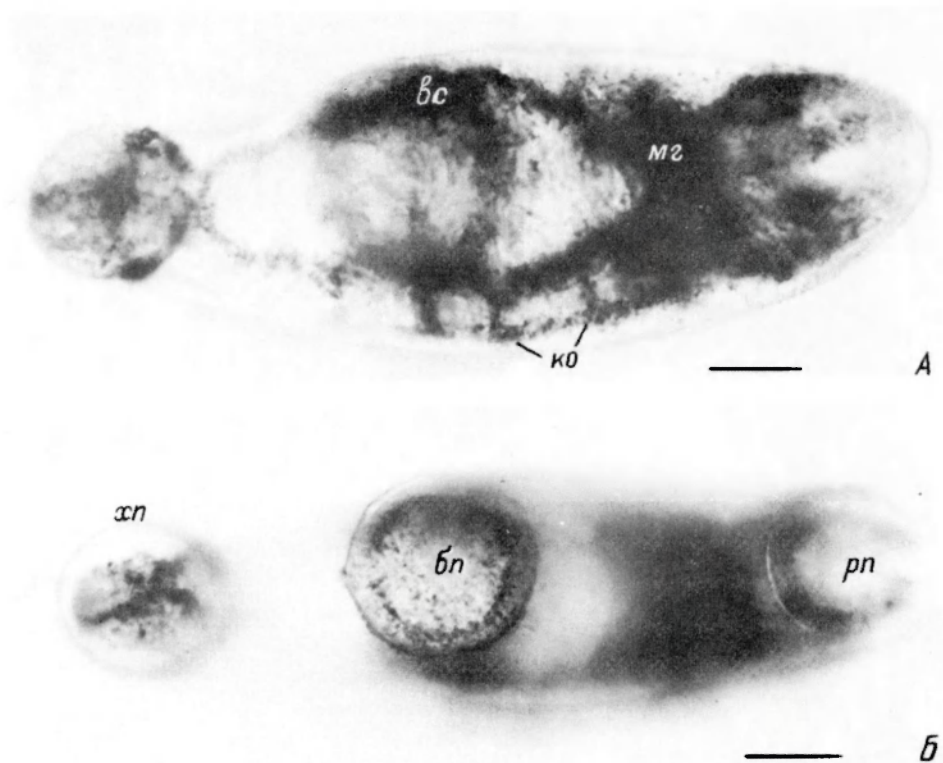


Рис. 2. Локализация холинэстеразной активности в теле церкарии. Вид с брюшной стороны. Линейка 10 мкм.

А — мозговой ганглий, вентральные стволы и кольцевые комиссуры; Б — брюшная присоска и стволы в хвосте; бп — брюшная присоска; вс — вентральный нервный ствол; ко — кольцевая комиссура; мг — мозговой ганглий, рп — ротовая присоска, хп — хвостовая присоска.

Fig. 2. Localization of cholinesterase activity in the body of cercaria. Ventral view. Scale 10 mkm.